však poukazují na korelaci vyššího mutačního zatížení a infiltrace CD8+ T-lymfocyty v nádoru nebo dokonce i se zvýšenou expresí PD-L1 v nádoru. Samotná exprese PD-L1 je v některých nádorech pro následnou terapeutickou odpověď na check-point inhibitory (anti-PD-1) zcela zásadní (17). Nejvýznamnější klinické studie s check-point inhibitory ukazují také daleko lepší terapeutickou odpověď u pacientů s expresí PD-L1 v melanomech a jejich metastázách než u pacientů s nádorem bez exprese. Ve studii s kombinací ipilimumabu a nivolumabu, ale i pouze při monoterapii nivolumabem, bylo pozorováno signifikantně lepší prodloužení přežití do progrese (PFS) u pacientů s expresí PD-L1 než u pacientů bez exprese (5, 8, 18). Ve studii s pembrolizumabem bylo u PD-L1 pozitivních pacientů pozorováno dokonce lepší celkové přežití (OS), PFS a míra terapeutických odpovědí než u PD-L1 negativních (19). Z těchto klinických studií vyplývá, že exprese PD-L1 může být pro následnou terapii melanomu check-point inhibitory zásadní a jedná se tedy o poměrně spolehlivý biomarker. Bohužel celá řada pacientů s dostatečnou expresí PD-L1 ale také nevykazuje terapeutickou odpověď na anti-PD-1 terapii a na druhé straně někteří pacienti bez exprese PD-L1 z této terapie profitují (5, 8, 18, 20). V tomto kontextu se ukazuje, že exprese PD-L1 v melanomu je nápomocný (suboptimální) biomarker predikující terapeutickou odpověď. Pro studium rezistence na imunoterapii jsou zajímavé práce, které se zaměřují na mechanismy, jež mohou ovlivňovat expresi PD-L1. Několik studií i u jiných nádorů prokázalo korelaci mezi ztrátou PTEN genu a upregulací exprese PD-L1 přes aktivaci signalizace PI3K/AKT/mTOR (21). U melanomu a jeho (*in vivo* i *in vitro*) modelů však ztráta exprese PTEN genu vedla ke zmenšení a potlačení TILs infiltrátu a aktivitě T-lymfocytů. Navíc v melanomovém modelu ztráta PTEN genu významně nezměnila expresi PD-L1, což naznačuje, že regulace a snížená exprese PD-L1 nemusí být hlavním mechanismem imunitní rezistence vyplývající ze ztráty PTEN genu (22).

Aby bylo možné účinně aktivovat T-lymfocyty, musí antigen prezentující buňky (DC, dendritické buňky) podstoupit proces zvaný maturace. Při tomto procesu zvyšují DC svou schopnost stimulovat T-lymfocyty posílenou expresí kostimulačních molekul potřebných pro aktivaci T-lymfocytů, jako jsou molekuly MHC I. a II. třídy, CD80, CD86 a CD40 (23). I tento mechanismus aktivace imunitního systému může být narušen. Jedním z mechanismů může být exprese IL-37b, který potlačuje maturaci a funkci DC snížením exprese CD80 a CD86 prostřednictvím signální dráhy ERK/S6K/NF-kB (24). Funkce DC může být potlačena při signalizaci STAT3, jejíž inhibice přispívá k infiltraci nádoru DC a TILs a významně se podílí na komunikaci mezi nádorovými melanocyty a buňkami imunitního systému. Tato komunikace vede k indukci dalších faktorů s imunosupresivním působením na maturaci DC jako je vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF), IL-10 a transformující růstový faktor beta (TGF-β) (25, 26).

Nádory mohou používat řadu imunitních úhybných mechanismů včetně zabránění T-lymfocytům infiltrovat nádorovou tkáň. Samotná infiltrace nádoru závisí na předchozí antigenní stimulaci imunitního systému a na schopnosti nádoru atrahovat buňky imunitního systému. V procesu infiltrace nádoru T-lymfocyty byl identifikován chemokinový receptor CXCR-3, který může být v tomto procesu významný stimulátor. V nádorovém myším modelu melanomu byl CXCR-3 silně exprimován v řadě podskupin T-lymfocytů a při následné transfekci jeho ligandem CXCL9, došlo k významnému zvýšení infiltrace CD4+ i CD8+ T-lymfocytů do melanomu (27). V melanomech s početnějším nádorovým infiltrátem CD8+ T-lymfocytů byla navíc prokázána exprese CXCL-9 a CXCL-10 (28). Význam v procesu infiltrace hraje i INF-γ, který zprostředkovává signalizaci mezi Treg lymfocyty, Th-lymfocyty a cytotoxickými T-lymfocyty. STAT3 signalizace inhibuje produkci CXCL-10 nádorově asociovanými myeloidními buňkami a následně dochází i ke snížení exprese INF-γ a infiltraci T-lymfocytů v melanomu. Při inhibici STAT3 dochází ke zvýšené expresi CXCR-3 a následné podpoře infiltrace CD8+ T-lymfocyty do nádoru (29).

Další molekulou ovlivňující nádorovou infiltraci TILs je VEGF, jehož exprese i zvýšená sérová koncentrace je spojena s progresí melanomu (30). VEGF snižuje adhezi T-lymfocytů k endotelu kapilár a nově utvořeným cévám potlačením exprese mezibuněčné adhezní molekuly 1 (ICAM-1) a vaskulární buněčné adhezní molekuly 1 (VCAM-1) v endotelových buňkách (31). Zvýšená exprese VEGF v nádorech byla spojena s imunosupresivními podněty, a dokonce i s nižší nádorovou infiltrací TILs. Cílená inhibice exprese VEGF byla spojena s vyšším TILs infiltrátem v melanomu a byla následována zesílenou expresí CXCL-10 a CXCL-11, které podporují prozánětlivé prostředí nádoru (32). V další studii bylo prokázáno, že VEGF zvyšuje expresi IL-10 a prostaglandinu E2 (PGE2), což vede ke zvýšené hladině Fas ligandů a následné indukci apoptózy CD8+ T-lymfocytů. Při cílené inhibici VEGF i v tomto modelu došlo ke zvýšené infiltraci TILs v melanomu (32). V klinických studiích s anti-CTLA-4 a anti-PD-1 byla retrospektivně prokázána vyšší exprese VEGF u pacientů bez terapeutické odpovědi než u pacientů, kteří na terapii odpovídali (33).

Mechanismů primární rezistence je zdokumentována celá řada, některé se navíc potencují a prolínají. Z terapeutických možností se jedná o mechanismy obtížně ovlivnitelné a překonatelné, i když případně poukazují na možnosti např. kombinované terapie cílené terapie a imunoterapie, nebo i kombinace s jinými inhibitory, jako jsou např. inhibitory VEGF, nebo inhibitory PI3K/AKT signalizace (22, 34).

Získaná rezistence na check-point inhibitory

Získaná rezistence se objevuje u pacientů, u kterých dochází k relapsu onemocnění po úvodní terapeutické odpovědi. V současné době jsou mechanismy získané rezistence hůře zmapovány, ale předpokládá se, že mnohé z nich budou pravděpodobně podobné těm, které jsou základem primární rezistence. S mechanismy přirozené selekce se mohou postupně vyvinout (selektovat) nádorové buňky s epigenetickými změnami, které propůjčují schopnost odolávat imunitnímu systému (35). Příkladem takové vlastnosti je ztráta exprese β2-mikroglobulinu, který je součástí molekul MHC I. třídy a přispívá k jejich funkční (správné) expresi. V preklinické studii pacientů s melanomem léčených imunoterapií byla ztráta β2-mikroklobulinu v průběhu léčby spojena s nižší schopností rozpoznávat nádorové antigeny